Änderungen des mittleren Zell-p_H durch Säuretitration

Untersuchungen an menschlichen Erythrocyten

Heinz-Dietrich Bolte

1962

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. H. Schwiegk

Änderungen des mittleren Zell-p_H durch Säuretitration

Untersuchungen an menschlichen Erythrozyten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Heinz-Dietrich Bolte

aus

Werl/Westf.

1962

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter:	Priv. Doz. Dr. G. Riecker
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. H. Schwiegk
Dekan:	Prof. Dr. W. Seitz

Tag der mündlichen Prüfung: 26.6.62

UNI-Druck, München 13

Änderungen des mittleren Zell-P_H durch Säuretitration.

Untersuchungen an menschlichen Erythrozyten

Inhaltsverzeichnis:

		Seite
A.	Einleitung und Fragestellung	1
B.	Physikalisch-chemische Vorbemerkungen	4
C.	Methodik	7
D.	Versuchsergebnisse	11
I.	I. Normalwerte	11
	II. Experimentelle Untersuchungen	20
	1. Veränderungen des Hämatokrit	20
	2. Bikarbonatinfusionen	20
	3. Experimentelle Acidose	20
	4. Einfluss von Desoxycorticosteron	23
	5. Hemmung des aktiven Kationentransportes durch Glykosid	23
	III. Pathologische Fälle	26
E.	Besprechung der Versuchsergebnisse	27
F.	Zusammenfassung	30
G.	Literaturverzeichnis	31

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555208_0090

Änderungen des mittleren Zell-p_H durch Säuretitration

Untersuchungen an menschlichen Erythrozyten

A. Einleitung und Fragestellung

Die Konstanthaltung der Wasserstoffionenkonzentration in den Körpersäften, also ihrer aktuellen Reaktion, gehört zu den fundamentalen Leistungen höher entwickelter Organismen. Sie wird mit Hilfe kompliziert zusammengesetzter Pufferungssysteme, mit Abtausch von Wasserstoffionen gegen andere Kationen an verschiedenen Zellgrenzflächen, mit Hilfe der Blutbelüftung und durch Säurelimination vornehmlich auf renalem Wege erreicht.

Normalerweise liegt der p_H-Wert im arteriellen Blutplasma zwischen 7,36 und 7,45 (SINGER u. HASTINGS 1948). Die physikalisch-chemischen Gesetzmässigkeiten der Ionenordnung an selektiv permeablen und elektrisch geladenen Grenzflächen bringen es mit sich, daß die mittlere Wasserstoffionenkonzentration in der Zellflüssigkeit höher liegt als in der extrazellulären Phase. So betrug die extra-intrazelluläre p_H - Differenz an Erythrozyten gesunder Personen 0,12 $\pm$ 0,003 Einheiten (v.BUBNOFF u. RIECKER 1961). Bereits der wechselnde Dissoziationsgrad zwischen Oxy-Hb. und Red.-Hb. bedingt im normalen p_H-Bereich und bei normaler arteriovenöser Sauerstoffdifferenz ein $\triangle p_H = 0{,}06$ (van SLYKE, WU u. McLEAN 1923). An anderen Körperzellen (z.B. Gehirnzellen, Muskelzellen) sollen die intra-extrazellulären p_H-Differenzen bis zu 0,4 Einheiten betragen (WADDELL und BUTLER 1959). Diese charakteristische Ionenverteilung ändert sich in Abhängigkeit von der Proteindissoziation, durch Ionenabtausch an der Zellmembran und beim Hinzutreten eines aktiven Wasserstoffionentransportes (z.B. an der Magen-Mucosa) (Einzelheiten siehe bei v.BUBNOFF und RIECKER 1961).

Wir müssen also unterscheiden zwischen dem Wasserstoffionenbestand und der Wasserstoffionenverteilung im Organismus. Der Wasserstoffionenbestand wird weitgehend durch die anfänglich erwähnten Mechanismen der Säureproduktion bzw. -Elimination und der Pufferung reguliert, während die Wasserstoffionenverteilung an die

Vorgänge der Ionenverteilung im allgemeinen geknüpft und von der Pufferung unabhängig ist.

Unter den biologisch bedeutsamen Puffersystemen des Organismus sind diejenigen des Blutes am besten untersucht und bekannt (van SLYKE, HASTINGS, HENDERSON). Dabei spielt wiederum die Abgabe von Alkali aus dem Hämoglobin im Falle einer Säuerung die größte Rolle, wobei der Dissoziationsgrad des Hämoglobins eine Funktion der Oxygenierung ist. Dementsprechend liegen die CO_2-Bindungskurven für Oxy.-Hb. tiefer als für Red.-Hb.. An zweiter Stelle steht der Bikarbonat-Puffer, dessen Wirksamkeit durch die Konzentration an $NaHCO_3$ begrenzt wird. Dagegen entfallen nur 5% der Pufferung auf die nur in niedriger Konzentration vorliegenden Serumproteine. Auch kommt der direkten Bindung von Kohlensäure an Hämoglobin in Form von Carbhämoglobin keine biologische Bedeutung zu. Wichtig ist noch, daß die Blutpufferung unter normalen Verhältnissen im Sinne eines heterogenen Puffersystems funktioniert, d.h., daß durch die Lungentätigkeit die CO_2-Spannung auf einem gleichbleibenden Wert gehalten wird. Da nämlich die Wasserstoffzahl des Blutes vom Verhältnis der freien Kohlensäure zur gebundenen Kohlensäure

$$\left[H^+\right] = k\frac{\left[H_2CO_3\right]}{\left[HCO_3^-\right]}$$

bestimmt wird, wirkt sich die Konstanz des Zählers dieses Konzentrationsverhältnisses bei Säuerung in einem geringeren Anstieg der Wasserstoffionenkonzentration aus.

Weitere biologisch wichtige Puffersysteme liegen in den Eiweiß- und Phosphatbeständen der übrigen Körperzellen vor. Dabei ist die Pufferung durch einzelne Proteine recht verschieden. Z.B. bindet die gleiche Menge Hämoglobin etwa dreimal mehr H-Ionen, als es die Serumeiweißkörper bei der gleichen p_H-Änderung zu tun vermögen (NETTER 1959). Die Bedeutung der zellständigen Phosphate für Pufferungsvorgänge wird allein schon durch die Tatsache verständlich, daß die zellulären Phosphatkonzentrationen etwa hundertmal höher liegen als in der extrazellulären Flüssigkeit.

Im einzelnen kommt es dabei aber auch auf die Art der organi-

schen Phosphatbindung (z.B. als Anhydrit, Ester, Guanidinphosphat) an, da nämlich nur der Pufferbereich der zweiten Dissoziationskonstanten k_2, also des Dihydrogenphosphates, zur Wirkung gelangen kann (NETTER 1959). Dies lässt wiederum vermuten, daß die Puffereigenschaften der Körperzellen ganz wesentlich vom jeweiligen Stoffwechselzustand, d.h. vom Vorhandensein dieser oder jener Stoffwechselprodukte bzw. Spaltprodukte abhängt. Im ganzen gesehen weisen Untersuchungen von ELKINTON und Mitarbeitern (1955) darauf hin, daß die gesamte Pufferkapazität des Organismus mindestens zu 30% aus den extravasalen Zellpuffern bestritten wird.

In unseren eigenen Untersuchungen gingen wir von der Annahme aus, daß Störungen des Zellstoffwechsels zu Störungen der zellulären Pufferkapazität führen müssen. Hierbei beschränkten wir uns zunächst auf das Substrat von menschlichen Erythrozyten. Einmal sind hier die Verhältnisse des Hämoglobin- und Bikarbonatpuffersystems gut bekannt, außerdem lassen sich diese Zellen in vitro unter determinierten Bedingungen und unter Ausschluß eines fehlergebenden extrazellulären Raumes untersuchen, ferner läßt sich Zellmaterial von bestimmten Krankheitszuständen wiederholt und ohne größeren Eingriff am Patienten entnehmen. In diesem Zusammenhang interessierten uns besonders Veränderungen der Pufferkapazität unter Steroideinflüssen , bei Krankheiten mit Herz- und Kreislaufinsuffizienz, mit sekundärem Hyperaldosteronismus und bei experimenteller Blockierung des aktiven Kationentransportes.

Gemessen an der eminenten Bedeutung, die der Aufrechterhaltung eines normalen Pufferungsgeschehens im Organismus zukommt, ist es erstaunlich, wie wenige Autoren sich bisher mit diesem Thema beschäftigt haben. SINGER und HASTINGS (1948) errechneten die jeweiligen Konzentrationen von Pufferanionen für sauerstoffgesättigtes Gesamtblut bei verschiedenen CO_2-Partialdrucken und p_H-Werten und konstruierten ein Nomogramm, das CO_2-Gehalt, Hämatokrit, Plasma-p_H, Pufferbasen des Gesamtblutes, CO_2-Druck und Sauerstoffsättigung zueinander in Beziehung setzt.

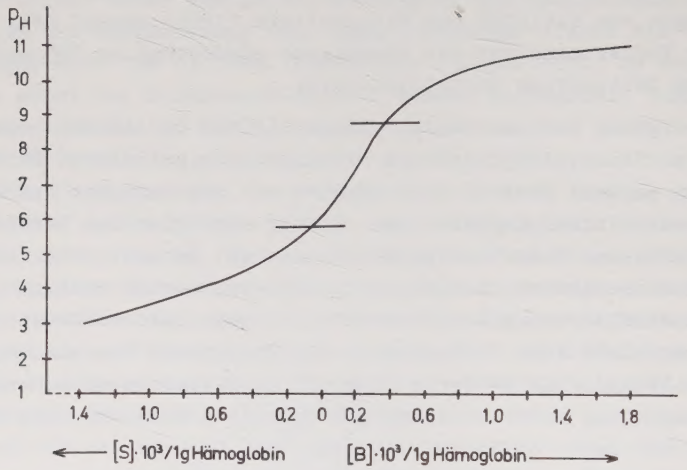

Abb. 1: Titrationskurve von Menschenhämoglobin (nach KILPI(1952)). Man beachte, daß der Verlauf der Kurve zwischen den beiden Inflexionspunkten p_H 5,76 und p_H 8,70, also im physiologisch wichtigsten Bereich, praktisch der einer Geraden ist.

1952 berichtete KILPI über Pufferkapazitäten einzelner Puffersysteme im normalen Blut unter besonderer Berücksichtigung des Hämoglobins (siehe Abb. 1). Geschlechtsbedingte Unterschiede der Pufferkapazität des Blutes sowie Veränderungen unter verschiedenen pathologischen Bedingungen wurden von VIIKARI (1954) und Mitarbeitern (1954) beobachtet. SALENIUS berichtete 1957 über Untersuchungen der Pufferkapazität von Gesamtblut, Plasma und auch Erythrozyten, jedoch beziehen sich seine Ergebnisse nicht auf das Blut von Normalpersonen, sondern auf das von voroperierten chirurgischen Patienten. ELLISON und Mitarbeiter (1958) veröffentlichten Pufferkapazitätswerte für Blut und Plasma von Normalpersonen. Bei einzelnen internistischen Krankheitsbildern stellten sie Abweichungen von diesen Werten fest.

B. Physikalisch-chemische Vorbemerkungen (zitiert nach NETTER 1951):

Dissoziation: Der Vorgang der Dissoziation unterliegt dem Massenwirkungsgesetz. Die Konstante K' (Gleichgewichtskonstante; Dissoziationskonstante) bestimmt das Dissoziationsgleichgewicht. Bei schwachen Elektrolyten beeinflussen Temperatur und Ionenstärke die Gleichgewichtseinstellung.
Bei schwachen Säuren ist die Wasserstoffionenkonzentration eine Funktion der Säurekonzentration und der Dissoziationskonstanten:

$$\left[H^+\right] = \sqrt{K \cdot c}$$

Bei Säuren, deren K von der Größenordnung der des Wassers (K_w) ist, lautet die entsprechende Beziehung:

$$\left[H^+\right] = \sqrt{K \cdot c + K_w}$$

Der Dissoziationsgrad schwacher Säuren ist p_H-abhängig:

$$\alpha = \frac{\left[A^-\right]}{\left[A^-\right] + \left[HA\right]}$$

$$\left[HA\right] = \frac{\left[H^+\right] \cdot \left[A^-\right]}{K}$$

$$\alpha = \frac{\left[A^-\right]}{\left[A^-\right] + \frac{\left[A^-\right] \cdot \left[H^+\right]}{K}} = \frac{1}{1 + \frac{\left[H^+\right]}{K}} = \frac{K}{K + \left[H^+\right]} = \frac{K}{K + 10^{-p_h}}$$

$1 - \alpha$ ist der Dissoziationsrest

$$\varrho = \frac{[H^+]}{K + [H^+]}$$

Daraus folgt, daß der Dissoziationsgrad α mit zunehmender Wasserstoffionenkonzentration kleiner wird. Ferner entstehen beim Zuordnen von α zur p_H-Skala, also beim Verwenden einer logarithmischen Abscisse, für α und ϱ spiegelbildlich gleiche aber entgegengesetzt verlaufende Wendepunktskurven. Der Wendepunkt liegt bei einem p_H, der den gleichen Wert besitzt wie der negative Logarithmus des Wertes der Dissoziationskonstanten (p_K). Wenn die Wasserstoffionenkonzentration den gleichen numerischen Wert besitzt wie die Dissoziationskonstante, dann ist α und $\varrho = 1/2$. Dieser höchst charakteristische Kurvenverlauf gestattet es also, bei bekanntem K den zu jedem p_H gehörigen Dissoziationsgrad zu entnehmen.

Die α-Kurve von schwachen Elektrolyten deckt sich praktisch mit der Titrationskurve. Dabei kann man die schwache Säure als undissoziiert, das Salz als dissoziiert annehmen. Dann ergibt das Verhältnis der schon neutralisierten zur gesamt vorhandenen Säure den Dissoziationsgrad. Trägt man also statt α den Prozentsatz der neutralisierten Säure auf, so entsteht aus der α-Kurve die Titrations- (Puffer-)Kurve. Bei Halb-Neutralisierung ist also p_H gleich p_K.

Sind zwei oder mehrere Säuren in der Lösung vorhanden, dann gestattet die Kenntnis ihrer Konstanten Äußerungen über ihren Dissoziationszustand bei gegebenem p_H: Das Alkali verteilt sich dann zwischen beiden nach Maßgabe der beiden Dissoziationskonstanten:

$$K_1 : K_2 = \frac{[A_1^-]}{[HA_1]} : \frac{[A_2^-]}{[HA_2]}$$

d.h. bei gleicher Wasserstoffzahl verhalten sich die Salz/Säure-Quotienten verschiedener schwacher Säuren zueinander wie ihre Dissoziationskonstanten.

Durch diesen Vorgang wird beispielsweise die CO_2-Bindungskurve des Serums determiniert: In Abhängigkeit vom p_H verteilt sich nämlich das

Alkali gesetzmäßig zwischen Kohlensäure und Protein, d.h. mit zunehmendem CO_2-Anteil (P_{CO_2}) wandert Alkali vom Protein ab und bindet CO_2 als $NaHCO_3$, deswegen nimmt die Gesamt-CO_2 dann stärker zu als P_{CO_2}. Auch hier ergibt sich die aktuelle Wasserstoffzahl aus

$$[H^+] = \frac{[H_2CO_3]}{[HCO_3^-]} \cdot K_1$$

Liegen also in einer Lösung zwei oder mehrere dissoziierende Gruppen oder Stoffe vor, dann wird die Absättigung bei der Titration sich entsprechend dem Zweisäureproblem nach der Lage der Dissoziationskonstanten richten. Die entstehende Kurve ergibt sich durch geometrische oder rechnerische Addition der zu erwartenden Einzelkurven. Der Kurvenzug weist Sprünge auf, wenn die entsprechenden Dissoziationskonstanten genügend weit voneinander entfernt liegen (z.B. bei der Magensafttitration; sog. Stufentitration). Anders liegen die Verhältnisse, sobald die Kurven sich überdecken oder so zahlreiche dissoziierende Gruppen mit wenig verschiedenem p_K vorhanden sind, daß keine typische Dissoziationskurve mehr zu erkennen ist (z.B. Eiweißstoffe). Die für Eiweißstoffe kennzeichnende Basenbindungskurve verläuft häufig über einen weiten p_H-Bereich geradlinig oder wenig geschwungen und weist nur gelegentlich einige Ausbuchtungen auf, welche auf im Eiweiß besonders reichlich vertretene Gruppen hinweisen.

Pufferung: Puffer sind im einfachsten Falle aus einer schwachen Säure mit ihrem Salz zusammengesetzt. Sieht man wie bei der obigen Besprechung der Titrationskurven den noch nicht neutralisierten Teil als undissoziierte Säure, den neutralisierten als total gespaltenes Salz an, so liefert die bekannte Beziehung:

$$[H^+] = \frac{[\text{Säure}]}{[\text{Salz}]} \cdot K$$

die Wasserstoffzahl der entsprechenden Puffermischung. Der eingestellte p_H-Wert hängt zunächst also nicht von der Gesamtpufferkonzentration ab, sondern lediglich vom Verhältnis beider Komponenten. Puffermischungen dienen entweder der Herstellung einer gewünschten Wasserstoff-

ionenkonzentration oder ihrer Aufrechterhaltung gegenüber dem Einbruch von Säuren oder Basen.

Bei gleicher Pufferkonzentration und gleicher Belastung mit H-Ionen ist die eintretende p_H-Änderung am geringsten am p_H der Halb-Neutralisierung, hier ist also die Pufferungsfähigkeit am größten, mit der Entfernung vom Wendepunkt der Kurve verringert sie sich.

Die Pufferfähigkeit wird als Pufferkapazität bezeichnet und wird definiert als Quotient aus der zugefügten Normalbase (Säure) in Äquivalenten Alkalilauge pro Liter (B) und der dabei entstandenen p_H-Änderung. Außer von der Lage des gegebenen p_H-Punktes auf der Dissoziationskurve ist die Größe der Pufferung von der Pufferkonzentration (c) abhängig.

$$\text{Pufferkapazität} \quad \beta = \frac{d\ B}{d\ p_H} = 2{,}3\ c\ \frac{[H^+] \cdot K}{([H^+] + K)^2}$$

Alle im Stoffwechsel auftretenden Säuren mit geeigneten Dissoziationskonstanten können sich als puffernde Substanzen betätigen. Im CO_2-System kommt im Reaktionsbereich der landbewohnenden Organismen praktisch nur die erste Dissoziationskonstante in Betracht. Sie ist von Ionenstärke und Temperatur abhängig. Die zweite Dissoziationskonstante liegt weit im alkalischen Bereich und regelt das Gleichgewicht der Carbonatbildung. Beim biologisch gleich wichtigen Phosphatsystem kommt gewöhnlich nur der Pufferungsbereich einer Dissoziationskonstanten, nämlich des primären Phosphates (p_K = 6,8), in Frage. Die Konstanten von gebundenem Phosphat liegen größtenteils bei kleinerem p_K als für das ungebundene Phosphat (z.B. 6,35 gegenüber 6,81).

Eiweiße und Aminosäuren reagieren nach Art von Zwitterionen. Die Lage des isoelektrischen Punktes wird bestimmt durch die Zahl der sauren und basischen Gruppen und durch deren Dissoziationskonstanten.

C. Methodik:

Allgemeines Vorgehen: Das zu untersuchende Blut wurde bei leichter Armstauung aus der Cubitalvene entnommen und in ein 30ml - Zentrifugenröhrchen aufgenommen. Zur Verhütung der Blutgerinnung wurde das Gläschen mit Heparin vorbehandelt.

3 ml des heparinisierten Blutes wurden für die Bestimmung der Pufferkapazität des Blutes in ein Zentrifugenröhrchen abpipettiert und in einen Thermostaten (37°C) gebracht.

Der Rest des Blutes wurde sofort anschließend 10 Minuten lang in einem Zentrifugenthermostaten mit 4500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, und hierbei sank die Temperatur des Blutes nicht unter 35°C ab. Von diesem Blut wurden zweimal 3 ml Plasma abpipettiert und 7 ml Erythrozytensediment mittels Rekordspritze abgesaugt. Das Erythrozytensediment wurde durch das Hinzufügen von 0,1 ml Äther pro ml unter kräftigem Schütteln (2 bis 3 Minuten lang) hämolysiert. Nach erfolgter Hämolyse wurden zweimal 3 ml Hämolysat abpipettiert. Plasma und Hämolysate wurden bis zu ihrer Verwendung im Thermostaten bei 37° C aufbewahrt.

Die Messungen der Pufferkapazität (B.C.) wurden an Blut, Zellhämolysat und Plasma durchgeführt. Hierbei wurden die unter definierter HCl-Titration auftretenden p_H-Änderungen gemessen. Zur Messung der p_H-Werte benutzten wir eine kombinierte Glaselektrode mit einem Kompensationspotentiometer (E 187, Firma Metrohm). Zur Eichung diente ein Standardphosphatpuffer von p_H 7,0.

Zunächst wurden die Proben in einem Wasserbad von 37°C mit einem CO_2/O_2 (5/95%) - Gasgemisch eine halbe Stunde lang tonometriert. Danach wurde das sogenannte Anfangs-p_H gemessen. Im Abstande von je 5 Minuten wurden dreimal je 1 ml einer 0,02 molaren HCl, insgesamt also 3 ml, zugegeben und unter fortwährender CO_2/O_2-Durchperlung die auftretenden p_H-Änderungen gemessen.

Die Durchmischung des jeweiligen Substrates (Vollblut, Zellhämolysat oder Plasma) mit der zugefügten HCl wurde durch die Durchperlung gewährleistet.

In Vorversuchen wurde festgestellt, daß eine Blutalterung von etwa 4 Stunden keinen Einfluß auf die Messwerte ausübt.

In anderen methodischen Untersuchungen konnten wir zeigen, daß eine nennenswerte Eiweißkoagulation bei der Verwendung einer 0,02 molaren, also einer mäßig konzentrierten, HCl vermieden wird.

Andererseits waren wir uns darüber klar, daß bei unserem Verfahren eine Verdünnung der puffenden Substrate herbeigeführt wird, die überhaupt unvermeidlich ist, wenn man ohne grobe Schädigung der Substrate mit einer praktisch völlig dissoziierten Säure wie HCl titriert.

Für das Zellhämolysat von fünf gesunden Versuchspersonen haben wir den Einfluss der Substratverdünnung auf folgende Weise abgeklärt. Durch stufenweise Titration von dreimal je 0,001 l aqua dest. erzielten wir eine mittlere p_H-Änderung von 0,08 $\pm$ 0,007. Wir erhielten diesen Wert durch fünf Doppelbestimmungen unter im Übrigen gleichen Bedingungen wie bei der HCl-Titration.

Anhand weiterer Vorversuche konnten wir zeigen, daß eine unterschiedliche O_2-Sättigung der Blutproben vor der Zentrifugierung keine signifikante Änderung unserer Messwerte bewirkt.

Wir haben zur Kennzeichnung der von uns gemessenen Änderungen des p_H-Wertes durch Säuretitration das Symbol B.C. (buffer capacity) verwandt und unsere Ergebnisse in Anlehnung an die van SLYKEsche (1922) Beziehung $\beta = dB / d\ p_H$ nach folgender Formel berechnet.

$$B.C. = \frac{n\ l\ .\ m\ mval/l\ \ HCL\ \ /\ \ l\ Substat}{p_{H\ 1} \quad -p_{H\ 2}}$$

n : Volumen der zugefügten Säurelösung
m : Normalität der verwendeten Säure
$p_{H\ 1}$: Messwert vor Zufügen der Säure
$p_{H\ 2}$: Messwert nach Zufügen der Säure

Unter Berücksichtigung unserer Zahlenverhältnisse ergibt sich, wenn die Zugabe von 0,02 mval zugrunde liegt:

$$B.C. = \frac{0{,}001\ l\ .\ \ 20\ mval/l\ HCl\ \ /\ 0{,}003\ l\ Substrat}{p_{H\ 1} - p_{H\ 2}} = \frac{20\ /\ 3}{\Delta\ p_H}$$

Wie schon erläutert, führten wir bei jeder Probe 4 p_H-Messungen durch. Dadurch waren wir in der Lage, jeweils drei Werte für $\Delta\ p_H$ zu errechnen. Unter Zugrundelegung der Vorstellung von einer Titrationskurve berücksichtigten wir etwaige Krümmungen im Kurvenverlauf auf folgende Weise: Wir errechneten für jeden Titrationspunkt den Faktor $1/\Delta\ p_H$, bildeten dann das arithmetische Mittel aus drei bzw. sechs Werten bei den Doppelbestimmungen und erzielten schließlich durch Multiplikation der jeweiligen Mittelwerte mit dem Faktor 20 / 3 die Endergebnisse für die B.C..

Veränderungen des Hämatokrits in vitro: Experimentell wurden in vitro Veränderungen des Hämatokritwertes erzeugt und die dadurch bedingten Veränderungen der Pufferkapazität gemessen. Hierbei wurde folgendermaßen verfahren: Von dem wie üblich entnommenen und zentrifugierten Blut wurde aus der Plasmafraktion mittels Record-Spritze eine bestimmte Plasmamenge entnommen und verworfen. Der verbleibende Rest wurde vorsichtig mit einem Glasstab verrührt und durch zusätzliches vorsichtiges Schütteln für 2 Minuten wurde eine gleichmäßige Durchmischung von Erythrozyten und Plasma erreicht.

Bei der Verminderung des Hämatokritwertes wurde aus der Sedimentfraktion des zentrifugierten Blutes eine bestimmte Menge mittels Record-Spritze entnommen und verworfen. Auch hier wurde nach längerem Schütteln die Pufferkapazität des Blutes, des Zellhämolysates und des Plasmas bestimmt.

Experimentelle Alkalose in vivo: Drei Personen infundierten wir jeweils 500 ml Na-Bikarbonatlösung (1,4 % intravenös). Kurz vor und eine halbe Stunde nach der Infusion wurden die für unsere Bestimmungen notwendigen Blutmengen entnommen, von denen wir durch Titration mit HCl nach der oben geschilderten Methode die Pufferkapazitätswerte ermittelten.

Experimentelle Acidose in vivo: An zwei gesunden Versuchspersonen wurden im Verlaufe von 24 Stunden eine metabolische Acidose durch Einnahme von 4 Tabletten Diamox und 4 g Ammoniumchlorid erzeugt. Vor Beginn und während der Acidose wurden die B.C.- und Elektrolytwerte des Blutes bestimmt. Anschließend wurde eine Infusion von 500 ml Na-Bikarbonat (1,4%ig intravenös) angeschlossen. 15 Minuten nach beendeter Infusion erfolgte eine weitere Blutentnahme für Messungen der Blutelektrolyte und B.C.-Werte.

DOCA-Versuche in vivo: Bei zwei gesunden Versuchspersonen wurde die fünffache therapeutische Erhaltungsdosis (100 mg) von Desoxycorticosteronacetat in Form einer Kristallsuspension (10 ml) beidseitig tief intragluteal appliziert. Vor Injektion, ein und zwei Tage nach Injektion wurde Blut zur Bestimmung der Elektrolytkonzentrationen und der Pufferkapazität entnommen.

Hemmung des aktiven Kationentransportes in vitro: Blutproben von gesunden Versuchspersonen wurden in vitro mit Strophanthin bis zu einer Endkonzentration von $3{,}33 \cdot 10^{-4}$ g% versetzt. Zusammen mit den Kontrollröhrchen, die kein Strophanthin enthielten, wurde das Blut für 3 1/2 Stunden in einem Wasserbad von 37°C unter Durchperlung eines CO_2/O_2 Gasgemisches (6/94 %) gehalten und auf diese Weise durchmischt und tonometriert. Nach Abschluß der Versuchsperiode wurden auch diese Blutproben in üblicher Weise analysiert. Insgesamt wurden 10 derartige Glykosidversuche durchgeführt.

Zur Methodik der Elektrolytbestimmungen siehe bei RIECKER (1960).

D. Versuchsergebnisse:

I. Normalwerte

Bei 20 gesunden Normalpersonen betrug die zelluläre Pufferkapazität $43{,}7 \pm 2{,}11$.

Berücksichtigt man die durch die Verdünnung bei gleichzeitiger Durchperlung (5/95% CO_2 / O_2-Gasgemisch) hervorgerufene p_H-Änderung, dann erhält man für die "wahre" zelluläre Pufferkapazität einen Wert von 95,2. Man erhält diesen Wert, indem man von dem $\triangle p_H$ 0,15, das dem B.C.-Mittelwert 43,7 zugrundeliegt, die p_H-Differenz 0,08, die sich bei H_2O -Titration ergab (siehe S. 9), subtrahiert und für das erhaltene Ergebnis den Pufferkapazitätswert berechnet. Wir glauben zu diesem Verfahren deshalb berechtigt zu sein, weil der Volumenanteil reiner HCl pro ml 0,02 molarer HCl-Lösung vernachlässigbar klein ist.

Die übrigen Werte und Streuungen sind aus Tabelle 1a ersichtlich. Hiernach beträgt die Pufferkapazität des sogenannten "wahren" Plasmas mehr als zwei Drittel des Zellpuffers. (Abb. 2 und 3). Aus Tabelle 1b gehen die Anfangs-p_H-Werte unserer Substrate hervor. Entsprechend den Ausführungen in Kapitel A liegt im zellulären Substrat ein höherer Säuerungsgrad vor im Vergleich zum Vollblut oder Plasma.
Die Titrationskurven lassen im einzelnen erkennen: Unter Säurezugabe richtet sich die Titrationskurve für das Erythrozytenhämolysat auf, während sich diejenige für das Plasma abflacht. Mit anderen Worten - im Verlaufe der Titration nimmt die Pufferkapazität des Erythrozytenhämolysates zu, die des Plasmas ab (siehe Abb. 4). Der Verlauf der Vollblut-Titrationskurve liegt fast ungekrümmt dazwischen.

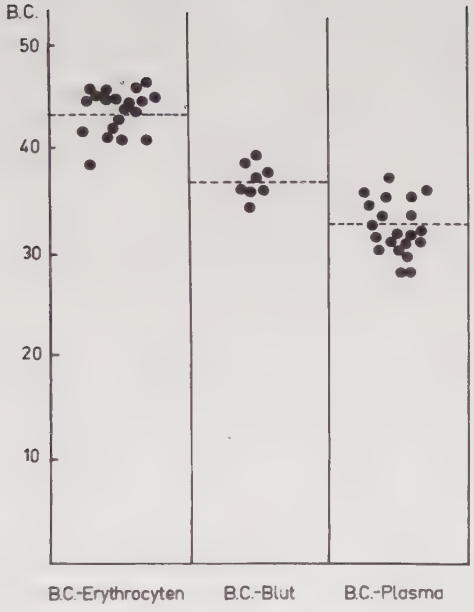

Abb. 2: Streubereiche der Pufferkapazitätswerte bei Normalpersonen.

	Mittelwert	Streuung (s)
B.C.-Erythrozyten	43,7	± 2,11
B.C.-Blut	36,9	± 1,52
B.C.-Plasma	32,7	± 2,56
Hämatokrit	48,8%	± 3,4
HCO_3/Plasma	25,0 mval/l	± 2,92
Hämoglobin	32,80 g%	± 1,14

Tab. 1a: Pufferkapazität bei Normalpersonen. Messungen an Zellhämolysat, Blut und Plasma. Die Werte für B.C.-Erythrozyten und B.C.-Plasma sind aus je 20 Werten gemittelt, die übrigen aus je 8 Werten.

Im Verlaufe weiterer Untersuchungen bestätigte sich unsere Vermutung, daß eine negative Korrelation besteht zwischen dem Anfangs-p_H des Erythrozytenhämolysates einerseits und der Pufferkapazität des Erythrozytenhämolysats, d.h. bei relativ saurem Ausgangs-p_H nimmt die Zell-Pufferkapazität zu und umgekehrt.

Offensichtlich lineare Beziehungen bestehen nach unseren Ergebnissen ferner zwischen der Pufferkapazität des Blutes und dem Hämatokrit (Abb. 5 und Abb. 6), was nach der eingangs geschilderten Bedeutung des Hämoglobins für das Blutpuffersystem keineswegs überrascht.

Ferner fanden wir eine positive Korrelation zwischen der Pufferkapazität des Plasmas und dem Plasma-Bikarbonatgehalt (Abb. 7), was die ausschließliche Bedeutung des Bikarbonatpartialpuffers und die geringe Bedeutung anderer Serumbestandteile (Serumproteine, Serumphosphate) zum Ausdruck bringt.

Um Aufschluß darüber zu erhalten, in welchem Maße sich die Pufferkapazität mit zunehmender Säuerung im Laufe der Titration ändert, haben wir die B.C.-Werte für die drei Titrationsstufen jeweils gesondert berechnet und für unser Normalkollektiv auch statistisch ausgewertet. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 1c zu ersehen. Hiernach steigt die zelluläre Pufferkapazität von Stufe I zu Stufe III kontinuierlich an. Die Veränderungen sind statistisch signifikant. Beim Plasma machen sich die umgekehrten Veränderungen erst in der letzten Titrationsstufe bemerkbar.

Die charakteristischen Größenunterschiede zwischen den partiellen Pufferkapazitäten des Zellsediments, des Vollblutes und des Plasmas sowie die ausgesprochen signifikante Korrelation zwischen dem Vollblut-Kapazitätswert und dem Hämatokrit ließen uns einen mathematisch formulierbaren Zusammenhang vermuten.

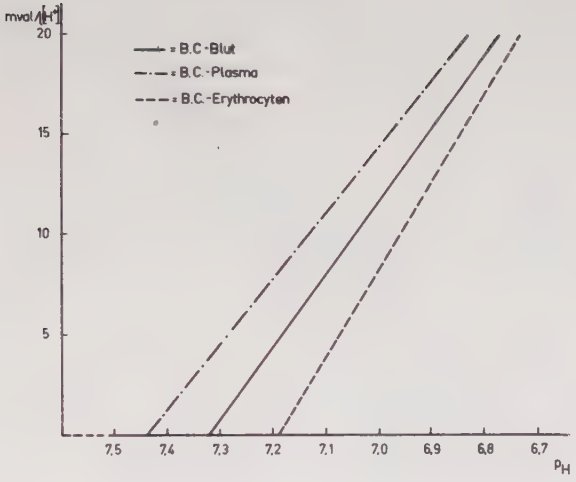

Abb. 3: Mathematisch konstruierte Titrationskurven für B.C.-Zellhämolysat, B.C.-Blut und B.C.-Plasma unter Zugrundelegung der bei Normalpersonen gefundenen Mittelwerte (B.C.-Ery: 43,7; B.C.-Blut: 36,9; B.C.-Plasma: 32,7)

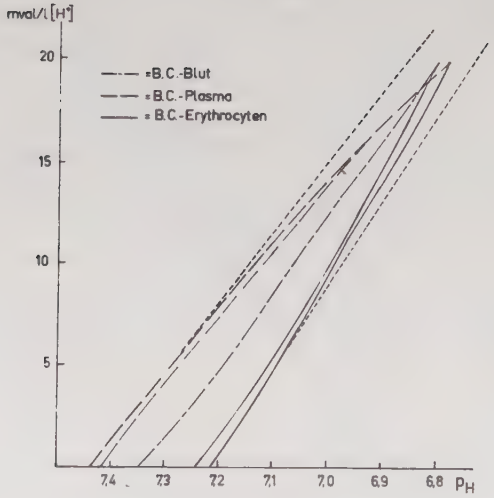

Abb. 4: Typisches Beispiel normaler Titrationskurven. Die Kurven wurden unter Zugrundelegung der bei einer Normalperson gefundenen Messwerte gezeichnet. Anhand der gestrichelten Geraden beachte man besonders den Krümmungsverlauf der Kurven für B.C.-Ery. und B.C.-Plasma (B.C.-Ery.: 45,6; B.C.-Blut: 36,4; B.C.-Plasma: 31,0) Ferner siehe Text!

"Anfangs"-p_H	Mittelwert	Streuung (s)
Erythrozyten	7,19	± 0,0236
Blut	7,32	± 0,0276
Plasma	7,44	± 0,0397

Tab. 1b: p_H-Werte der zu Pufferkapazitätsmessungen verwendeten Substrate unmittelbar vor Beginn der Titration. (Normalwerte)

B.C.-Erythrozyten	Mittelwerte	"Anfangs"-p_H
Stufe I	40,22 ± 4,3772	7,19
Stufe II	43,13 ± 3,475	7,03
Stufe III	47,76 ± 2,556	6,88
B.C.-Plasma		
Stufe I	43,11 ± 2,496	7,43
Stufe II	34,15 ± 4,111	7,24
Stufe III	29,98 ± 3,150	7,05

Tab. 1c: Pufferkapazitäts- und"Anfangs"-p_H-Werte der einzelnen Titrationsstufen (Normalpersonenkollektiv) (siehe Text).

H = Hämatokrit in Vol. %
B = B.C.-Blut
E = B.C.-Zellhämolysat
P = B.C.-Plasma
F = sog. Plasmafehler in Vol. %

Mit einigen Einschränkungen, auf die später noch eingegangen werden soll, kann man die Pufferkapazität des Blutes als die Summe der Kapazitätsanteile des Erythrozytenhämolysates (Hämatokrit) und des Plasmas betrachten. In Abhängigkeit vom Hämatokrit ist dann folgende Gleichung denkbar:

$$B = \frac{H}{100} \cdot E + \frac{100 - H}{100} \cdot P$$

Zu berücksichtigen ist zusätzlich die interzelluläre Plasmamenge im Erythrozytensediment, der sog. Plasmafehler.
Dann gilt:

$$B = \frac{H - F}{100} \cdot E + \frac{100 - H + F}{100} \cdot P$$

Mit Hilfe von Messungen der Inulinverteilung konnten RIECKER und v.BUBNOFF die Größe des Plasmafehlers quantitativ ermitteln. (siehe Tabelle 2)

Da wir für unsere Pufferkapazitätsmessungen die tiefe und die mittlere Sedimentschicht verwerteten, setzten wir für F den Mittelwert aus $V_{Pl\ (t)}$ und $V_{Pl\ (m)}$ ein. Dann ist
F = 2,525 Vol.%.

Nach Umformung lautet unsere Gleichung dann:

$$B = \frac{(H - 2{,}5)\,E + (102{,}5 - H)\,P}{100}$$

Setzen wir die in Tabelle 2a angegebenen Mittelwerte in diese Gleichung ein, dann ergibt sich für B ein errechneter Wert von 37,8 gegenüber einem gemessenen Wert von 36,9. Dieses Ergebnis spricht für die Richtigkeit der vermuteten Beziehungen.

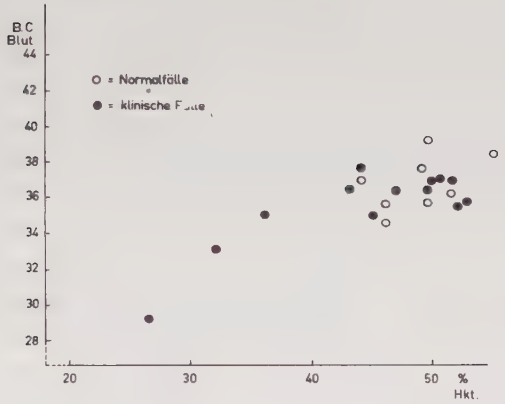

Abb. 5: Abhängigkeit der B.C.-Blut von der Höhe des Hämatokritwertes bei Normalpersonen und bei Kranken.

tiefe Schicht	V_{Pl} (t)	2,28 Vol%
mittlere Schicht	V_{Pl} (m)	2,77 Vol%
obere Schicht	V_{Pl} (o)	3,85 Vol%

Tab. 2: Interzelluläre Plasmamenge (V_{Pl}) im Erythrozytensediment (siehe Text). (nach RIECKER und v.BUBNOFF - 1959 -)

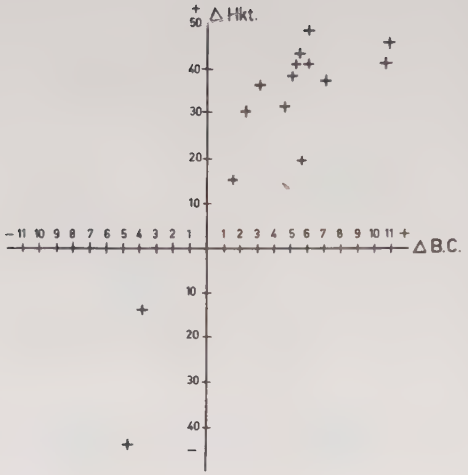

Abb. 6: Durch experimentelle Erhöhungen bzw. Erniedrigungen des Hämatokritwertes wurden Änderungen der B.C.-Blut erzielt. Die Abbildung zeigt die Abhängigkeit B.C.-Blut von Hämatokritwert. (siehe Text)

Als Einschränkung muß jedoch gesagt werden, daß in der angegebenen Gleichung der Pufferungseffekt des Ionenabtausches an Zellmembranen nicht berücksichtigt ist, der den errechneten Wert für B etwas erhöhen würde. Im Übrigen siehe im Kapitel E.

II. Experimentelle Untersuchungen

1. Veränderungen des Hämatokrits

In zehn Versuchen wurde der Hämatokrit von durchschnittlich 45,5% auf 85,7%, also um durchschnittlich 40,2% erhöht. Dabei kam es zu einem deutlichen Anstieg der Blut-Pufferkapazität von 36,38 auf 42,54, also um 6,16.

Eine Erniedrigung des Hämatokrits von 57,5% auf 28,5%, also um 29,0% führte in zwei Versuchen zu einer Senkung der Blut-Pufferkapazität von 37,8 auf 33,5, also um 4,3.

In Abbildung 6 finden sich diese Ergebnisse in ein Koordinatensystem aufgetragen. Man erkennt deutlich die lineare Abhängigkeit zwischen den Veränderungen des Hämatokrits und denen der Blut-Pufferkapazität.

2. Bikarbonatinfusionen

Bei 3 Personen wurden, wie schon im Kapitel C. Methodik aufgeführt, jeweils 500ml einer 1,4%igen Na-Bikarbonatlösung intravenös injiziert und vor und eine halbe Stunde nach Infusion die Pufferkapazitätswerte gemessen. Infolge Verdünnung durch Infusion kam es bei diesem Verfahren zu einer Hämatokritsenkung von durchschnittlich 46,5% auf 43,8%. Der Plasma-Bikarbonatspiegel stieg von 22,3mval/l auf 28 mval/l an. Trotz dieses merklichen Anstiegs des Bikarbonatpuffers erhöhte sich die Pufferkapazität des Blutes nur von 37,2 auf 39,2, die Pufferkapazität des Plasmas stieg dabei von 30,4 auf 33,6 an. Dagegen änderten sich die Messwerte für das Zellhämolysat praktisch nicht. Der Anstieg der Blut-Pufferkapazität ist also bei diesem Verfahren aller Wahrscheinlichkeit nach auf das alleinige Ansteigen der Plasma-Pufferkapazität zurückzuführen. Hierauf weisen auch überschlägige Berechnungen, die mit Hilfe der im Kapitel I aufgestellten Formel durchgeführt wurden. Hierbei entspricht der Anstieg der Plasma-Pufferkapazität dem Anstieg des Standard-Bikarbonats.

3. Experimentelle Acidose

Die Abbildung 8 gibt die Veränderungen der Pufferkapazität des Blutes, des Zellhämolysats und des Plasmas im Verlaufe einer experimentellen

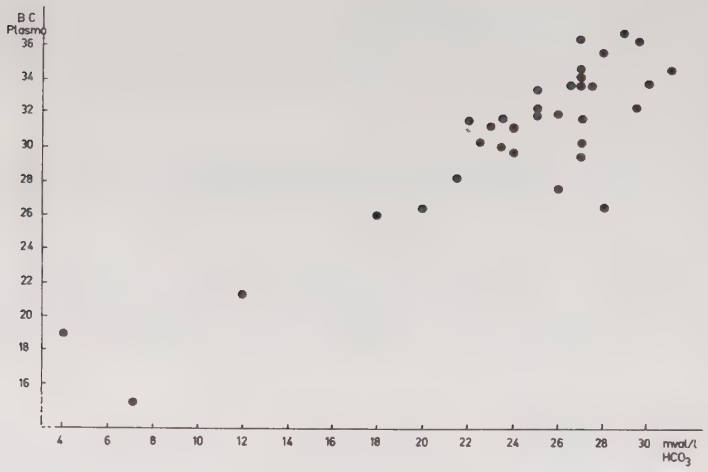

Abb. 7: Abhängigkeit der B.C.-Plasma von der HCO_3-Konzentration im Plasma. Es wurden die Werte von Normalpersonen und Kranken berücksichtigt.

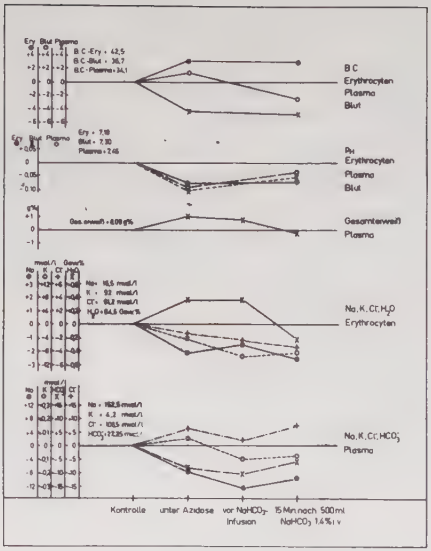

Abb. 8: Experimentelle metabolische Acidose, erzeugt durch Diamox und Ammoniumchlorid bei zwei gesunden Versuchspersonen. Die Abbildung zeigt die Änderung der Elektrolytverteilung und der Pufferkapazitäten. Die zu Grunde gelegten Werte sind Mittelwerte (zwei gesunde Versuchspersonen)

metabolischen Acidose von zwei gesunden Personen (Mittelwertskurve) wieder. Hierbei kam es zu einer beträchtlichen Senkung des Vollblut-p_H um etwa 0,1 Einheiten. Der Anstieg des Gesamteiweißes ist Ausdruck der Bluteindickung infolge massiver Diurese. Gleichzeitig kommt es

zu der von RIECKER und v.BUBNOFF (1959) beschriebenen Auswanderung der Zellkationen, was man als Abtauschvorgang gegen die erhöhte extrazelluläre Wasserstoffionenkonzentration zu verstehen hat.

Während der Acidifizierung kommt es zu einem Anstieg der zellulären Pufferkapazität und derjenigen des Vollblutes, die Plasma-Pufferkapazität sinkt ab. Letzteres erklärt sich einfach durch die Wegtitration des Serum-Bikarbonates. Das Ansteigen der zellulären Pufferkapazität erklären wir uns mit dem Verlauf der normalen Titrationskurve (Abb. 4), deren Eigenschaft es ist, bei höheren Titrationsstufen bzw. im zunehmend saueren Bereich mit einer Aufbiegung im Sinne erhöhter Pufferkapazitäten zu reagieren.
Siehe hierzu auch Tabelle 1c.

Unter der anschließend durchgeführten Infusion von 1,4%iger Na-Bikarbonatlösung (500ml) gehen die Blut-p_H-Werte auf die Hälfte der anfänglichen Änderungen zurück, die Werte der Zellelektrolyte und der zellulären Pufferkapazität ändern sich hierbei praktisch nicht.

4. Einfluß von Desoxycorticosteron

Die Auswirkung einer Injektion von 100mg DOCA intramuskulär bei zwei gesunden Versuchspersonen auf die Blutelektrolyte sowie auf die Pufferkapazität des Blutes zeigt die Mittelwertskurve der Abbildung 9. Infolge der renalen Wirkungen von Mineralokortikoiden kommt es zu einer vermehrten Säureelimination bzw. zu einer vermehrten Bikarbonatproduktion in den Nierentubuli und damit zu einer metabolischen Alkalose. Gleichzeitig nimmt der Zellkationenbestand zu. Zusammen mit dieser Erhöhung der zellulären Na- und K-Konzentration steigt die zelluläre Pufferkapazität verwertbar an und normalisiert sich im Verlaufe der nächsten 51 Stunden nach Injektion. Dagegen sinkt die Pufferkapazität des Plasmas leicht ab, als Auswirkung beider letzteren Vorgänge bleibt die Blut-Pufferkapazität praktisch konstant.

5. Hemmung des aktiven Kationentransportes durch Glykosid

Bei Hemmung des aktiven Kationentransports des Erythrozyten durch Glykoside nach dem Vorgehen von SCHATZMANN (1953) und GLYNN (1957) in einer Konzentration von $3{,}33 \cdot 10^{-3}$ g/l in vitro kommt es, wie die Mittelwertskurve von zehn eigenen Versuchen zeigt, zu einem Anstieg

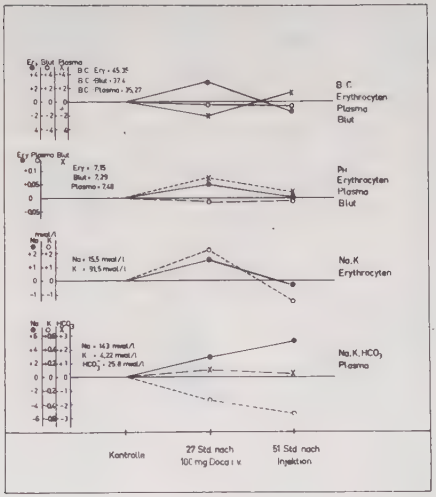

Abb. 9: Wirkung von 100 mg DOCA bei zwei gesunden Versuchspersonen. Die zu Grunde gelegten Werte sind Mittelwerte.

des zellulären Na/K-Quotienten und zu einer Abflachung der intra/extrazellulären Konzentrationsdifferenzen dieser beiden Kationen als Folge des gehemmten aktiven Transportes. Der Zellwassergehalt nimmt zu. Bemerkenswert ist der deutliche Anstieg des Wertes für $Cl_{innen}/Cl_{außen}$, der von 0,55 (s=0,0087) auf 0,57 (s=0,0088) ansteigt. $\triangle r_{Cl}$ beträgt also 0,0232. Ferner beobachteten wir, daß sowohl intra- wie auch extrazellulär das Milieu deutlich alkalischer wird, und zwar steigen innen die p_H-Werte von 7,19 auf 7,23 (s=0,024 bzw. 0,02) und außen von 7,24 auf 7,29 (s=0,035 bzw. 0,044) an. Die Pufferkapazitäten des Vollbluts, des Zellhämolysats und des Plasmas blieben trotz dieser distinkten Veränderungen praktisch unverändert. (Abb.10)

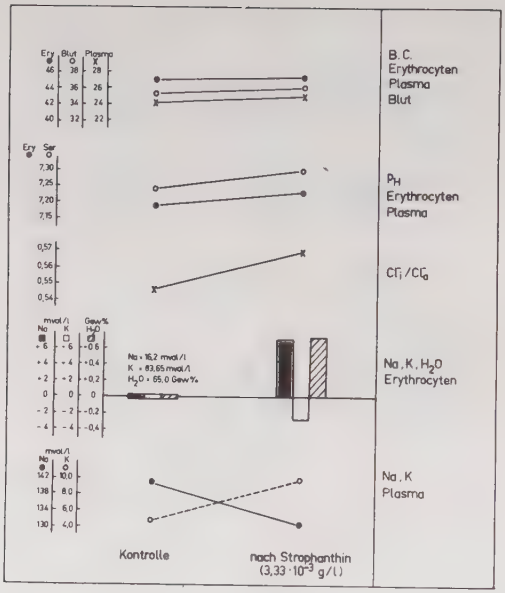

Abb. 10: Hemmung des aktiven Kationentransportes durch Glykosid in vitro. Die eingetragenen Messwerte sind aus zehn Versuchen gemittelt. Besonders charakteristisch ist der deutliche Anstieg von r_{Cl}. Die Pufferkapazitätswerte änderten sich praktisch nicht. (siehe auch Kapitel E. S. 30)

Name	Fe.	Sa.	Du.	Le.	Sai	Fu.	Sp.	W.C.	Kl.	A.K.	A.B.	We.	Feh.	Kap.
Grundleiden	Praeurämie nephrogen. Hypertonus	Thrombophlebitis	Ascites	akute Nieren-insuff. nach gr. Blutung	Polycythaemia vera	Herzinfarkt Linksinsuffizienz	Herz. insuff. Salzentz.	Urämie Cystenniere	Rechts-insuff.	Nieren-insuff. Crush-N.	Oedeme unklar Genese	M. Hodgkin	dekomp. Poly-cyt. hämie	frgl. Magen-Ca., Emphysem
B.C.-Ery.	58,9	61,8	51,4	52,7	52,1	49,9 48,0 47,5 45,6	47,7 46,1	42,0 45,6	43,3	43,7	40,7	30,5	45,0	42,0
Anfangs-$p_{H\ E}$	7,17	7,20	7,14	7,12	7,16	7,13 7,16 7,20 7,17	7,20 7,23	6,90 6,87	7,25	7,10	7,23	7,09	7,16	7,24
B.C.-Blut	-	-	-	-	36,5	- - - -	- 36,7	- -	-	-	-	29,3	33,1	35,7
Anfangs-$p_{H\ B}$	-	-	-	-	7,26	- - - -	7,34 7,35	- -	-	-	-	7,30	7,34	7,36
B.C.-Plasma	31,5	35,5	27,6	26,0	33,0	26,4 37,6 32,3 33,8	30,6 31,9	18,9 14,9	35,9	21,3	32,6	29,5	32,0	34,5
Anfangs-$p_{H\ P}$	7,43	7,47	7,49	7,32	7,45	7,52 7,44 7,48 7,46	7,50 7,45	7,13 7,00	7,61	7,20	7,50	7,51	7,45	7,51
Hämatokrit %	-	-	-	-	45%	- - - 49	51 50	- -	-	-	-	26,5	32	52
Eiweiß/Pl g%	-	-	7,53	8,07	-	6,93 - - -	8,86 -	7,84 7,47	-	6,68	6,54	6,88	-	-
Hämoglobin	85%	100%	32,95g%	30,19g%	-125%	30,71 32,26 -	32,26 -	27,95 31,40	-	32,43	31,57	24,15	32,08	30,36
HCO_3/Plasma	-	-	26mval/l	18mval/l	-	28 29 -	16 26	4 ? 7	-	12	27	27	25	31
Bemerkungen					Ery.:7,5 Mill.	10.3. 11.3. 14.3. 16.3.	1.4. 6.4.	21.3. 17.3.			B.C. Ery. an der Grenze von -2s			

Tab. 3.: Pathologische Fälle; kasuistische Übersicht der gefundenen Messwerte

III. Pathologische Fälle

Insgesamt führten wir bei 14 internistisch erkrankten Patienten Messungen der Pufferkapazität durch. Als pathologisch erhöht oder erniedrigt betrachteten wir diejenigen Werte, die außerhalb der Streubereiche (d.h. $\pm$ 2s) der Mittelwerte unseres Normalpersonen-kollektivs lagen (vergl. auch Tabelle 2a und 2b).

Nach den Erörterungen im Kapitel I wird die Steigung der Titrationskurve ganz wesentlich vom sogenannten Anfangs-p_H bestimmt. Wie schon gesagt, liegt die Pufferkapazität von Zellhämolysaten im saueren Bereich bei etwas höheren Werten als im alkalischen Bereich, was auf Eigentümlichkeiten der Proteindissoziation zurückzuführen ist. Normale Pufferkapazitätswerte von Zellhämolysaten bei sauerem Anfangs-p_H sind daher als relativ erniedrigt, bei alkalischem Anfangs-p_H als relativ erhöht zu betrachten.

Die Tabelle 3 gibt eine kasuistische Übersicht über die gefundenen Messwerte. Hierbei lassen fünf von sieben Patienten mit chronischer Herz- bzw. Kreislaufinsuffizienz (Herzinsuffizienz, Zustand nach Herzinfarkt, Hypertonus, Zustand nach akuter Blutung) erhöhte zelluläre Pufferkapazitäten erkennen. Auch im Verlaufe eines akuten Herzinfarktes kommt es anfänglich zu einer deutlichen Erhöhung der zellulären Pufferkapazität mit Normalisierung der Werte in den nächsten sechs Tagen (Patient Fuchs).

Relative oder absolute Erniedrigungen der zellulären Pufferkapazität fanden sich vor allem bei Patienten mit erniedrigtem Zell-Hämoglobin. Erniedrigungen der Plasma-Pufferkapazität korrelieren gewöhnlich mit Verminderungen des Standard-Bikarbonats im Plasma.

Bei einem Patienten mit Polycythämie, der einen normalen Hämoglobinwert von 32,08 g% an Erythrozyten aufwies, war eine erniedrigte Blut-Pufferkapazität auf 33,1 bei normalen Pufferkapazitäten für Erythrozyten und Plasma festzustellen.

E. Besprechung der Versuchsergebnisse:

In Tabelle 4 haben wir unsere eigenen Werte (vgl. Tabelle 1a) denen anderer Autoren gegenübergestellt.

Diese Autoren haben ebenso wie wir HCl-Titrationen durchgeführt. Der Verdünnungsgrad des Substrates durch die Titrierlösung entspricht bei dem methodischen Vorgehen von ELLISON dem unsrigen, bei dem von SALENIUS beträgt er ein Zehntel des unsrigen.

Die vergleichsweise zu hohen Werte für die Pufferkapazität des Blutes, die sich aus dem Nomogramm von SINGER und HASTINGS (1948) ergeben, erklären sich ganz einfach dadurch, daß von jeglicher Verdünnung im Zusammenhang mit einer herbeigeführten p_H-Änderung abgesehen wird.

So wird der von uns errechnete hohe Wert für die "wahre" zelluläre Pufferkapazität, der sich durch die Eliminierung des Verdünnungseinflusses ergibt, verständlich.

Unser Hämoglobinwert bezieht sich nicht auf die Volumeneinheit Gesamtblut, sondern auf Erythrozytenhämolysat.

Auffällig ist, daß unsere Werte für B.C.-Plasma um rund das Doppelte höher liegen als diejenigen von ELLISON und SALENIUS, während die Werte für B.C.-Blut in die Größenordnung der Messergebnisse der anderen Autoren fallen. Wir führen diesen Befund darauf zurück, daß auf Grund unserer Methodik die Wirkungsweise des Bikarbonatsystems in größerem Umfange in Erscheinung tritt, als dies bei ELLISON und bei SALENIUS der Fall ist.

Wir führten unsere Messungen nämlich nicht wie die anderen Autoren unter Luftabschluß durch, sondern mit Hilfe der Durchperlung unserer Substrate (Zellhämolysat, Blut und Plasma) mit einem O_2/CO_2-Gasgemisch von konstantem CO_2-Partialdruck (siehe Kap. Methodik). Die Titration wurde also nicht im geschlossenen System unter Gasabschluß, sondern bei konstantem CO_2-Partialdruck durchgeführt (sog. heterogenes Puffersystem; siehe Kapitel B.). Dadurch, daß der CO_2-Partialdruck konstant gehalten wird, kann während der Titration gebildete Kohlensäure entweichen, hierdurch wird der Pufferungseffekt des Bikarbonatsystems, der unter Luftabschluß recht begrenzt ist, ganz erheblich gesteigert. Hieraus erklären sich dann auch ganz zwanglos unsere vergleichsweise hohen Werte für B.C.-Plasma.

Aus diesen Ergebnissen und Erwägungen ist im Hinblick auf pathologische Zusammenhänge zu folgern, daß zur vollen biologischen Ausnutzung des Bikarbonatpuffersystems eine störungsfreie Funktion des Respirations-

apparates unerlässlich ist. Unter dieser Voraussetzung ist das Bikarbonatsystem der wichtigste Puffer im extrazellulären Flüssigkeitsraum. So fanden wir beispielsweise in einem Falle bei hochgradig erniedrigtem Plasma-Bikarbonat auf 4mval/l und einem normalen Plasma-Gesamteiweiß von 7,84 g% eine gleichfalls abnorm erniedrigte Plasma-Pufferkapazität von 18,9.

	Eigene Werte	ELLISON	SALENIUS
B.C.-Ery.	43,7 ±2,1	-	
B.C.-Blut	36,9 ±1,5	38,5	31,8 ±3,5
B.C.-Plasma	32,7 ±2,5	16,1 ±0,9	15,2 ±1,1
Hämatokrit %	48,8 ±3,4	49,6 ±3,4	-
HCO_3 Plasma mval/l	25,0 ±2,9	26,2 ±1,6	19,8 ±2,2
Hämoglobin g%	32,8 ±1,1	14,9 ±1,1	11,7 ±2,2

Tab. 4: Vergleich unserer Ergebnisse von Normalpersonen mit denen anderer Autoren. Unser Hämoglobinwert bezieht sich auf Erythrozytenhämolysat. (siehe Text)

Wie SALENIUS (1957) fanden auch wir Korrelationen zwischen Pufferkapazität und p_H zu Anfang der Titration. Mit zunehmender Säuerung des Blutes am Anfang der Titration ergab sich, wie bei SALENIUS für Blut, bei uns eine Zunahme der zellulären Pufferkapazität. Während Salenius das gleiche Ergebnis beim Plasma beobachtete, fanden wir jedoch, daß mit Abnahme des Anfangs-p_H-Wertes auch die Plasma-B.C. abnimmt und daß bei hohem Anfangs-p_H die Plasma-B.C. ebenfalls erhöht ist, was ohne weiteres auf die lineare Beziehung zwischen Plasma-Pufferkapazität und Plasma-Bikarbonat zurückzuführen ist (Abb. 7). Wir müssen daraus schließen, daß die von SALENIUS beobachtete negative Korrelation zwischen B.C.-Plasma und dem Anfangs-p_H offenbar nicht auf die Wirkung des Bikarbonatsystems zurückgeht, sondern auf die anderer im Plasma vorhandenen Puffersysteme, wie etwa der Proteine.

Die in Kapitel D. I. angegebene Formel ermöglicht es, in Abhängigkeit vom Hämatokrit, B.C.-Blut, B.C.-Zellhämolysat und B.C.-Plasma zu berechnen, wenn zwei von diesen drei Größen bekannt sind. Diese Formel ist nur bei Zugrundelegung der hier angegebenen Methodik gültig. Diskrepanzen zwischen errechneten und wirklich gemessenen Werten erklären sich aus der Tatsache, daß unsere Messwerte von Zellen an Hämolysat, also bei nicht intakter Membran erhoben wurden, sie lassen also Pufferungsvorgänge außer Acht, die beispielsweise an den Anionenabtausch (HAMBURGER, SHIFT) gebunden sind. Diskrepanzen können aber auch Ausdruck für das Auftreten neuer, etwa aus dem Zellstoffwechsel entstandener Puffersubstanzen sein, die in die Erfahrungen des normalen Versuchsmaterials und damit in die Ableitung dieser Formel nicht eingehen.

Auf das Hinzutreten neuer, unter physiologischen Umständen nicht vorhandener Puffersubstanzen müssen wir die in Tabelle 3 aufgeführten erhöhten zellulären Pufferkapazitäten zurückführen. Bei fast allen Patienten handelt es sich dabei um Zustände mit akuter oder chronischer Kreislaufinsuffizienz, bei denen es im Gefolge der hämodynamischen Störung bzw. endokrinologischer Entgleisungen in Form des sekundären Hyperaldosteronismus zu umfangreichen Störungen im Wasser- und Elektrolythaushalt des Organismus kommt. Beispielsweise sind bei solchen Zuständen Erhöhungen des Zell-Natrium - und Zell-Wassergehaltes sowie Erniedrigungen des Zell-Kaliumgehaltes beschrieben worden (Schrifttum siehe bei RIECKER 1960; siehe auch SCHWIEGK und RIECKER 1960). Nach neueren Untersuchungen von RIECKER und v.BUBNOFF (1962) liegt diesen Veränderungen der Zell-Elektrolyte eine Hemmung des aktiven Kationentransportes, insbesondere von Natrium, zu Grunde. Man muß vermuten, daß diese Störungen des aktiven Kationentransportes durch Störungen des energieliefernden Zellstoffwechsels bedingt sind. In diese Richtung weisen erste Erfahrungen von JAHRMÄRKER (1962). Das Auftreten von Spaltprodukten energiereicher Phosphate könnte beispielsweise für die hier beobachtete Erhöhung der zellulären Pufferkapazität in Frage kommen.

Auf mögliche Mitwirkungen von Steroiden in diesem Zusammenhang weisen auch unsere experimentellen Befunde nach DOCA-Injektion. Hier kommt es, wie berichtet, zu einer verwertbaren Erhöhung der zellulären Pufferkapazität, ohne daß diese auf gleichzeitige Schwankungen des Plasma-Bikarbonats oder des zellulären Hämoglobingehaltes zurückzuführen wären. Neuere Untersuchungen von KOCZOREK, v.BUBNOFF und RIECKER (1962) bestätigen diese Vermutung, daß die Nebennierenrinde mit der Regelung des Säure-Basengleichgewichtes verknüpft ist. Die genannten Autoren fanden im Ver-

laufe einer metabolischen Alkalose trotz gleichbleibender äußerer Salzbilanz eine Steigerung der renalen Aldosteronausscheidung, die als Ausdruck vermehrter Aldosteronsekretion in der Nebennierenrinde zu betrachten ist. Mit dem Anstieg des Urinaldosterons stieg die Säureelimination im Urin weiter an und waren die Blut-p_H-Werte rückläufig. Die Autoren vermuten, daß die Acidifizierung der Körpersäfte einen Stimulus zur Aldosteronsekretion ausübt, die ihrerseits wieder durch Steigerung der renalen Säureelimination auf der einen Seite und durch Bildung extra und intrazellulärer Puffersubstanzen auf der anderen Seite dieser Säuerung entgegenwirkt.

Interessant und grundsätzlich wichtig ist in diesem Zusammenhang unser Befund, daß die isolierte Blockierung des aktiven Kationentransportes die zelluläre Pufferkapazität nicht beeinflusst. Auch dieser Befund bestätigt unsere Vermutung, daß es sich bei der pathologischen Erhöhung der zellulären Pufferkapazität um membranunabhängige zellstoffwechselabhängige Vorgänge handelt.

F. Zusammenfassung

Mit Hilfe der Säuretitration von Erythrozytenhämolysat, Vollblut und Plasma wurde die Pufferkapazität (B.C.) von gesunden und kranken Personen bestimmt.

Unter normalen Umständen ist die zelluläre Pufferkapazität (B.C.-Ery.) vom Hämoglobingehalt und vom Ausgangs-p_H der Titration, die Pufferkapazität des Plasmas (B.C. Plasma) im wesentlichen von der Bikarbonatkonzentration, ungleich weniger vom Gehalt der Serumproteine abhängig. Die Pufferkapazität des Vollblutes (B.C. Vollblut) ist eine Resultante aus beiden Anteilen und steht in linearer Abhängigkeit vom Hämatokrit.

In experimentellen Untersuchungen ließ sich die Pufferkapazität im Vollblut durch Bikarbonatinfusionen nur unwesentlich, durch Steigerung des Hämatokrits dagegen recht beträchtlich steigern.

Unter der Einwirkung von Desoxycorticosteron-Acetat kam es bei zwei gesunden Versuchspersonen zu einer verwertbaren Steigerung der zellulären Pufferkapazität (B.C.-Ery.) zusammen mit der gleichzeitig zu beobachtenden Erhöhung des zellulären Kationenbestandes und einer metabolischen Alkalose. Die Veränderungen der Zellpuffer waren weder durch einen er-

höhten Hämoglobingehalt, noch durch eine Erhöhung der Bikarbonatkonzentration erklärbar.

Bei Hemmung des aktiven Kationentransportes in vitro durch Glykoside wurde die zelluläre Pufferkapazität (B.C.-Ery.) nicht verändert.

Messungen der zellulären Pufferkapazität (B.C.-Ery) bei 24 Patienten mit internistischen Erkrankungen fanden sich durchschnittlich erhöhte Werte bei chronischer Herz- und Kreislaufinsuffizienz, erniedrigte Werte bei Krankheiten mit sekundärer Erniedrigung des Zell-Hämoglobingehaltes. Die erhöhten Werte der zellulären Pufferkapazität (B.C.-Ery.) sind weder durch die Hämoglobinkonzentration noch durch die Standard-Bikarbonatkonzentrationen des Plasmas erklärbar. Das Auftreten von neuen aus dem Zellstoffwechsel stammenden puffernden Substanzen wird diskutiert.

G. Literaturverzeichnis:

BUBNOFF, M.v. und G.RIECKER: Kli.Wo. 39, 23-28 (1961
ELKINTON,J.R. et al.: J.clin. Invest. 34, 1671 (1955
ELLISON et al.: Clin.Chem.Vol.4,Nr.6,S.452 (1958)
GLYNN, I.M.: J. Physiol. 136,148 (1957)
HASTINGS,A.B., J.Sendroy,jr. and D.D. van SLYKE: J.of biol.chem. 79,183 (1928
HENDERSON,L.J.: Blood. A study in general physiology, Yale Univ.Press 1928
JAHRMÄRKER,H.: 1962, unveröffentlicht
KILPI,S.: Acta Chem. Scand. 6,475 (1952)
KOCZOREK,Kh.R.,M.v.BUBNOFF u. G.RIECKER: Kli.Wo. 40,113/14 (1962)
NETTER,H.: Biologische Physikochemie, Potsdam 1951
NETTER,H.: Theoretische Biochemie, Springer-V. 1959
RIECKER,G.: Habilitationsschrift 1960
RIECKER,G. und M.v.BUBNOFF: Zeitschrift für gesamte experimentelle Medizin 132,102-106 (1959)
RIECKER,G. und M.v.BUBNOFF: Diurese und Diuretica. Springer-V. 1959
RIECKER,G. und M.v.BUBNOFF: unveröffentlicht (1962)
SALENIUS,P.: Scandin. J.Clin. et Lab.Invest. 9,160 (1957)
SCHATZMANN,H.J.:Helv.physiol.pharmacol.acta 11,364 (1953)

SCHWIEGK,H. und RIECKER,G.: Hdb. inn.Med. Band IX,1 Springer 1960
SINGER,R.B. and A.B.HASTINGS: Medicine 27,223 (1948)
SLYKE,D.D. van: J. Biol.Chem. 52.525 (1922)
SLYKE,D.D.van: J.biol.Chem.173,25 (1922)
SLYKE,D.D.van, H.Wu and F.C. McLEAN: J.biol.Chem. 56,765 (1923
VIIKARI,S.J.: Acta Chir.Scand. 107,525 (1954)
VIIKARI,S.J.,P.HARJOLA and T.MAAMIES: Scan.J.Clin.Lab.Invest. 6,122(1954)
VIIKARI,S.J.: Ann.med.int.fenn. 43,321 (1954)
WADDELL,W.J. and Th.C.BUTLER: J.clin.Invest. 38,720 (1959)

Lebenslauf

Am 21. November 1935 wurde ich, Heinz-Dietrich Bolte, in Berlin-Steglitz geboren, Sohn des Fabrikdirektors Dr. Friedrich Bolte und seiner Ehefrau Else, geb. Rockmann. Meine Kindheit verbrachte ich bis zum fünften Lebensjahre in Berlin. Im Mai 1941 wurde dann meine neue Heimat Werl in Westfalen. Hier besuchte ich ab Herbst 1942 die Volksschule und dann ab Ostern 1947 das altsprachliche Mariengymnasium. Nach bestandener Reifeprüfung im Februar 1956 nahm ich im Mai 1956 das Medizinstudium auf an der Universität Münster in Westfalen. Nach einem fünfsemestrigen Studium an der Universität in Münster bestand ich Ende Juli 1958 die ärztliche Vorprüfung. Das Wintersemester 1958/59 absolvierte ich in Wien. Während der folgenden fünf Semester studierte ich an der Universität in München, wo ich am 15. Dezember 1961 das medizinische Staatsexamen bestand. Ich bin deutscher Staatsangehörigkeit und evangelischer Konfession.